ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. VII, 1. SECTIO D 1952

Z Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. kontr. dr Stanisław Grzycki

Janina SKALSKA-VORBRODT

Badania doświadczalne nad udziałem jądra komórkowego w procesie wydzielniczym gruczołów ślinowych

Исследование опытов относительно участья ядра клетки в процессе выделения слюнных желез

Experimentale Untersuchungen über die Teilnahme des Zellkernes am Ausscheidungsprozesse der Speicheldrüsen

Proces wydzielniczy komórki gruczołowej jest obszernie rozpracowany z punktu widzenia aparatu Golgiego i mitochondriów. Hirsch (1931—39), Hosselet (1927), Czasownikow (1929), Kedrowski (1947), Chodnik (1947—48), Grzycki (1949—51) i wielu innych łączyli wszystkie fazy rytmu pracy aparatu Golgiego, charakteryzujące się zmiennością morfologiczną, z czynnościami wytwórczymi komórki. Nassonow (1926), Aoyama (1931), Ries (1935—37), Lever (1947), Sluiter (1948) i inni autorzy natomiast obserwowali mitochondria, które ulegając fizyko-chemicznym przemianom, albo bezpośrednio, albo pośrednio brały udział w produkowaniu wydzieliny. Grzycki nawet wskazywał na istnienie pewnej wspólnoty fizjologicznej między mitochondriami a aparatem Golgiego i podobnie jak Kurkiewicz (1931), Kurashige (1930), Ahara (1933), Pawlikowski (1938), Lewynson i Platonowa (1947—48), Tho-

mas (1948) oraz Polenow (1950) zwrócił uwagę na udział jądra w procesie wydzielniczym.

Problem ten rozpatrywany był także przez Gilsona (1890), Aimé (1908), Marschalla i Vorhiesa (1906) oraz Maziarskiego (1911).

Maziarski zwraca również uwagę na udział jąderek w procesie wydzielniczym, opierając swoje spostrzeżenia na jednakowej barwliwości jąderek i ziarenek cytoplazmatycznych, na obecności jąderek wewnątrz wakuoli wyprodukowanych przez jądro, a przede wszystkim na zmianach ich objętości i barwliwości w przebiegu cyklu wydzielniczego.

Caspersson (1947), Brachet (1947), Lewynson i Platonowa badając procesy wydzielnicze komórek, starali się na drodze histochemicznej rozpatrzyć przemiany zachodzące w jądrze, a dotyczące ilości, rozmieszczenia i zdolności przedostawania się kwasu dezoksyrybonukleinowego (DRN) przez błonę jądrową do cytoplazmy.

Zachowanie się substancji jądrowej w początkowych okresach życia komórki badał także Godlewski (1946) stwierdzając, że w okresie dojrzewania może ona wędrować do cytoplazmy, by następnie podczas podziału komórki powrócić do jądra.

Zgodne z tym są wyniki badań Mitchella (1943) omawiające udział kwasu rybonukleinowego (RN) w syntezie kwasu DRN, co wykazał ten autor na komórkach nowotworowych pozostających pod działaniem promieni X. Także Brachet zauważył w jajach jeżowca ubytek kwasu RN cytoplazmy, a wzrost ilości kwasu DRN w jądrze, przy czym ogólna ilość kwasów nukleinowych pozostawała bez zmian.

W badaniach moich postanowiłam prześledzić rytm pracy komórek śluzowych ślinianek pozostających pod wpływem pilokarpiny i atropiny, przy czym szczególną uwagę zwróciłam na zachowanie się jądra i zawartego w nim kwasu DRN, oraz chondriomu.

Materiał doświadczalny i metoda badań

Badania doświadczalne przeprowadzono nad śliniankami podszczękowymi młodych białych myszy *(Mus musculus alb.)* samców, wagi 15—18 g. Polegały one na jednorazowym i wielokrotnym podskórnym wstrzykiwaniu w okolicę grzbietu po 1 ccm 0,4% pilokarpiny, 0,1% atropiny, oraz płynu fizjologicznego (NaCl 0,89%).

Myszki podzielono na trzy grupy doświadczalne.

Do I grupy należały myszki (Nr 1—33), które otrzymały 0,4% roztwór pilokarpiny podskórnie w ilości 1 ccm oraz myszki (Nr 34—42), które otrzymały co 3 godz. zastrzyki 0,4% pilokarpiny po 1 ccm do łącznej ilości 4 ccm.

W II grupie umieszczono myszki (Nr 43—66), którym wstrzyknięto jednorazowo po 1 ccm atropiny 0,1%, oraz myszki (Nr 67—75), które otrzymały kilkakrotnie po 1 ccm atropiny 0,1% w odstępach 3 godzinnych do ilości łącznej 4 ccm.

W III grupie były myszki (Nr 76—93), które otrzymały jednorazowo roztwór soli fizjologicznej (NaCl 0,89%) w ilości po 1 ccm, oraz myszki (Nr 94—102), które otrzymywały co 3 godz. zastrzyki podskórne soli fizjologicznej do łącznej ilości 4 ccm.

Myszki zabijano przez dekapitację, a pobrany materiał utrwalano w płynach: Krälingera, Carnoy, sublimat 6% z kwasem octowym, oraz formol obojętny 10% (Romeis, 1943) i po odwodnieniu zatapiano w parafinie. Skrawki mikrotomowe grubości 10 mikronów barwiono: według Unny—Papenheima, według Feulgena, hematoksyliną żelazistą Heidenhaina, oraz hemalaunem i eozyną. Część skrawków grubości 4—5 mikr. została zabarwiona metodą Bracheta z użyciem rybonukleazy i brawników Unny—Papenheima.

Pilokarpiny i atropiny użyto wyłącznie w celu pobudzenia względnie zahamowania procesu wydzielniczego w komórkach gruczołowych ślinianek, a tym samym, celem podkreślenia różnic w budowie komórki mniej i bardziej czynnej. Soli fizjologicznej użyto dla wykluczenia ewentulnego wpływu, jaki mógł mieć uraz na ślinianki.

Badania własne

Badania doświadczalne były poprzedzone dokładnym przeglądnięciem preparatów ślinianek podszczękowych myszek, które nie podlegały żadnym wpływom farmakologicznym. Skrawki mikrotomowe po odparafinowaniu barwiono: hematoksyliną i eozyną, zielenią metylową i pyroniną, oraz hematoksyliną żelazistą.

Ślinianki podszczękowe myszek są to typowe gruczoły cewkowo-gronkowe złożone, w których zauważa się odcinki wydzielające śluz i mniej liczne odcinki utworzone przez komórki o charakterze surowiczym. Szczególną uwagę zwróciliśmy na komórki śluzowe, a to ze

względu na to, że zahamowanie względnie pobudzenie ich procesu wydzielniczego jest przystępne dla obserwacji histologicznej.

I Grupa doświadczalna

Pilokarpina 0,4% po 5, 10, 15 i 20 min.

Po 5—20 min. od chwili jednorazowego wstrzyknięcia 1 ccm pilokarpiny pęcherzyki wydzieliny w komórkach śluzowych stawały się coraz liczniejsze.

W tych okresach doświadczenia ilość dużych ziaren kwasu DRN silnie barwiących się, a obserwowanych na preparatach kontrolnych zmalała, wzrosła natomiast ilość ziarenek mniejszych, które umiejscowiały się przeważnie na obwodzie jądra.

Mitochondria wybarwiły się w bardzo małej ilości, zawsze jednak widziało się je w bezpośredniej styczności z zewnętrzną powierzchnią jądra.

Pilokarpina 0,4% po 25 i 30 min.

Na preparatach z tego okresu doświadczalnego zauważyliśmy zmiany cytomorfologiczne w komórkach, które charakteryzowały się: przemieszczeniem jądra ku środkowi komórki, zmniejszeniem ilości pęcherzyków wydzieliny, grupujących się zazwyczaj w 1/3 górnej części komórki, podczas gdy dolne 2/3 zajmowała cytoplazma wraz z jądrem. Wielkość jądra w porównaniu z komórkami kontrolnymi znacznie wzrosła.

Metodą Feulgena wykazaliśmy w jądrach od 1 do 4 grube, silnie barwiące się ziarna, o nieregularnych obrysach, przylegające do wewnętrznej strony błony jądrowej.

Zabarwienie met. Unny—Papenheima potwierdziło obserwacje poczynione po zastosowaniu odczynu Feulgena.

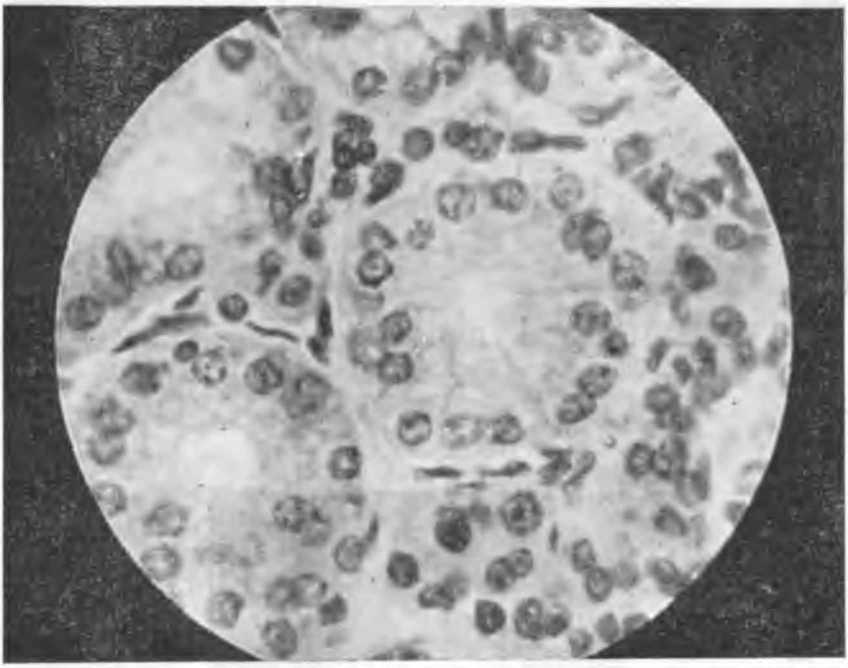
Mitochondriów było na tych preparatach bardzo mało, rozsypane były równomiernie po cytoplazmie, w różnych odległościach od jądra. Mała ilość kwasu DRN i chondriomu, i ukończony równocześnie proces usuwania wydzieliny z komórki, może świadczyć o współzależności między kwasem DRN i mitochondriami, i o możliwości brania przez nie udziału w procesie wydzielniczym.

Pilokarpina 0,4% po 40, 50, 60, 70 i 80 min.

Po dłuższym okresie działania pilokarpiny obraz histologiczny ślinianek ulegał stopniowym zmianom, upodabniając się do preparatów kontrolnych.

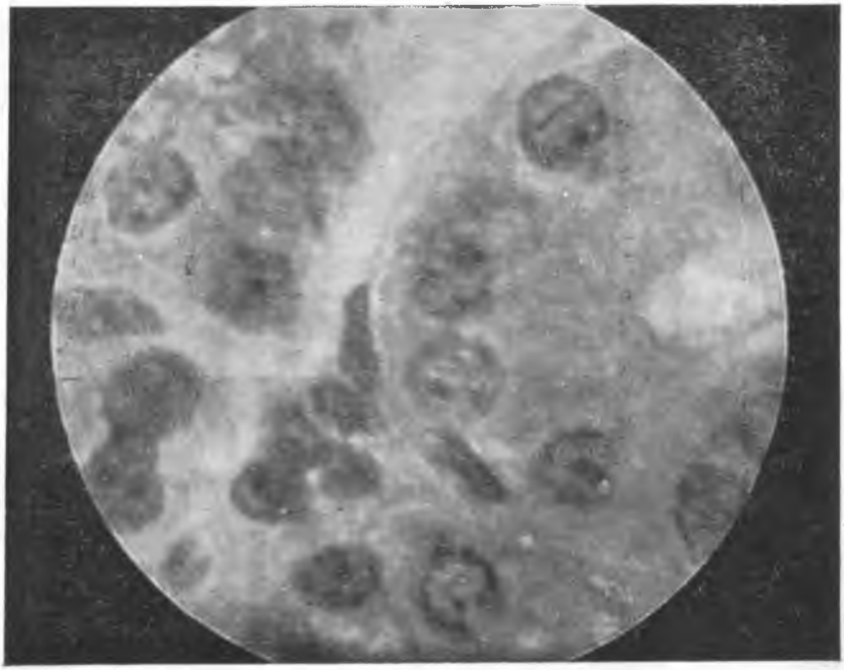
Pilokarpina 0,4% w ilości 2, 3 i 4 ccm.

Podanie myszkom po 2, 3 i 4 ccm pilokarpiny w odstępach 3-godzinnych po 1 ccm nie zmieniło ogólnego obrazu histologicznego ślinianek. Może najsilniej zaznaczoną zmianą było bardzo znaczne porozszerzanie naczyń krwionośnych i obfite wypełnienie ich krwią. Układ gronek wydzielniczych i cewek nie odbiegał od normy. Komórki tworzące je były niezbyt wysokie, w ich górnych biegunach gromadziła się niewielka ilość śluzu. Jądra duże, owalne, a częściej jeszcze okrągłe, zajmowały w komórkach położenie środkowe, wypełniając prawie połowę ich objętości.



Mikrofot. 1.

Odczyn Feulgena i met. Unny—Papenheima pozwoliły stwierdzić, że kwasu DRN było w nich mało, i to przeważnie w postaci skupisk silnie barwiących się, umiejscowionych w ilości 2—3 w bliskości błony jądrowej. Okolica przyjąderkowa była bardzo uboga w kwas DRN. Wszystkie jądra przedstawiały obraz dużych, pustych balonów o silnie napiętej, cienkiej błonie (mikrofot. 1 i 2), co najlepiej uwidoczniało



Mikrofot. 2.



Mikrofot. 3.

się na preparacie po 4 ccm pilokarpiny. Przeglądając preparaty odnosiło się wrażenie, że aparat jądrowy został całkowicie jakby rozładowany i cała komórka znajduje się w stanie wyczerpania.

Preparaty barwione hematoksyliną żelazistą potwierdziły nasze poprzednie obserwacje. Pośrodku komórek wydzielniczych obserwowaliśmy duże, okrągłe jądra, których wyczerniony zrąb był bardzo delikatny. Mitochondria w postaci czarnych ziarenek grupowały się przeważnie w okolicy jądra, w różnych, na ogół jednak niezbyt dużych ilościach. Pojedyncze ziarenka można było obserwować także pomiędzy kroplami wydzieliny (mikrofot. 3).

II Grupa doświadczalna

Atropina 0,1% po 5, 10, 15 i 20 min.

Obraz histologiczny ślinianki nie przedstawiał wyraźnych różnic w porównaniu z preparatami kontrolnymi. Barwliwość preparatów hematoksyliną i eozyną była dobra, siatka zrębu jądrowego wyraźna.

Metodą Feulgena wykazaliśmy rozmieszczenie ziarenek kwasu DRN, sprawdzając otrzymane wyniki przez zastosowanie met. Unny—Papenheima. Ziarenek kwasu DRN w jądrach komórek w tym okresie doświadczalnym było bardzo dużo; spotykaliśmy pośród nich ziarenka dużych rozmiarów i ziarenka drobne, rozsypane równomiernie po całej karioplazmie.

Przerost aparatu jądrowego zaznaczył się dużym stopniem nagromadzenia kwasu DRN w postaci licznych skupień zwanych przez K o l l e r a (1947) chromocentrami. Chromocentra te rozmieszczone były przeważnie w pobliżu błony jądrowej. Chromatyna związana z jąderkiem (przyjąderkowa) widoczna była wyraźnie. Powierzchnia zewnętrzna błony jądrowej była gładka i napięta.

Chondriom wykazany hematoksyliną żelazistą przedstawiał się jako drobne, czarne ziarenka, rozrzucone po cytoplazmie, przy czym w strefie przyjądrowej obserwowaliśmy prawie zawsze największe ich nagromadzenie.

Ciekawym zjawiskiem zaobserwowanym przez nas na omawianych preparatach było występowanie wśród komórek gruczołowych podziałów mitotycznych w różnych stadiach.



Mikrofot. 4.

Atropina po 25 i 30 min.

Ślinianki myszek pozostających około 1/2 godziny pod wpływem atropiny wykazywały znaczne rozszerzenie odcinków wydzielniczych. Komórki tworzące je były wysokie, stożkowate, dość obficie wypełnione wydzieliną. Eozyna dokładnie barwiła cytoplazmę, skupiająca się w 1/3 dolnej części komórki i wciskającą się jedynie delikatnymi pasemkami pomiędzy wodniczki wydzieliny. Jądro o wyraźnym, silnie wybarwionym zrębie chromatynowym umiejscowiało się na obwodowym końcu komórki.

Użycie metody Feulgena i Unny—Papenheima pozwoliło stwierdzić, że w tych jądrach owalnych, często wrzecionowatych, o nieregularnych obrysach, znajdowało się dużo kwasu DRN. Gromadził się on nie tylko w licznych, dużych skupiskach, lecz także rozsypywał się obficie po karioplaznie drobnymi ziarnistościami. W jądrach tych zwracało także uwagę obfite nagromadzenie kwasu DRN w okolicy jąderek.

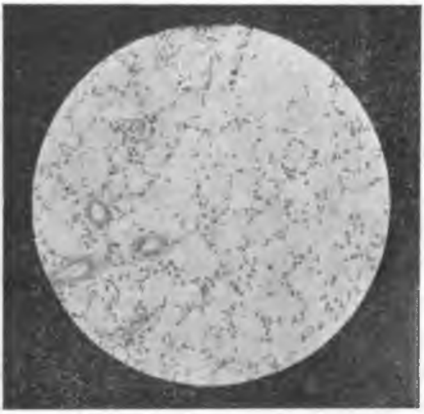
Mitochondria wyczernione hematoksyliną żelazistą były nieliczne, występowały pod postacią drobnych, delikatnych ziarenek, grupujących się w pobliżu jądra i podstawowej części komórki.

Atropina 0,1% po 40, 50, 60, 70 i 80 min.

Dłuższy czas działania atropiny nie wpłynął na znaczną zmianę obrazu histologicznego. Można było obserwować jak gdyby stopniowy powrót do obrazu preparatów kontrolnych.

Atropina 0,1% 2, 3 i 4 ccm.

Duże zmiany dały się zauważyć w obrazie mikroskopowym ślinianek myszy, którym czterokrotnie wstrzyknięto po 1 ccm atropiny. Już



Mikrofot. 5.



Mikrofot. 6.

pod małym powiększeniem obserwowaliśmy porozszerzanie odcinków wydzielniczych i obwodowe rozmieszczenie w nich jąder komórkowych (mikrofot. 5). Dokładniejsze przeglądnięcie wykazało, że cewki i gronka wydzielnicze zbudowane były z komórek dość wysokich, o skąpej

ilości drobnych kropelek wydzieliny, grupujących się w górnym biegunie komórki. W świetle odcinków wydzielniczych i przewodów odprowadzających nie spotykaliśmy zupełnie wydzieliny.

Jądra komórek gruczołowych były owalne, częstokroć nawet wrzecionowate. Były one małe, zajmowały 1/6 część ciała komórki i umiejscawiały się w części podstawowej, częstokroć nawet jak gdyby przylegały bezpośrednio do retikulinowej błony podstawowej.

Zabarwienie zielenią metylową i pyroniną, a przede wszystkim przeprowadzenie odczynu Feulgena wykazało, że jądra te dają bardzo silny odczyn na kwas DRN. Występował on w nich w postaci drobnych, silnie barwiących się ziarnistości, tak gęsto usianych na obszarze jądra, że odnosiło się wrażenie, jakby całe jądro dawało dodatni odczyn Feulgena (mikrofot. 6). Jąder dużych, okrągłych, w których kwasu DRN było mało, i to wyłącznie w postaci dużych grudek, na omawianych preparatach nie spotykaliśmy zupełnie.

Drobne ziarna mitochondrialne wyczernione hematoksyliną żelazistą Heidenhaina były nieliczne. W wielu komórkach nie spotykało się ich zupełnie, w innych występowały przyjądrowo, w ilości kilku zaledwie ziaren. W niektórych komórkach zaobserwowaliśmy niewielkie ich skupienia w środkowej części komórki, pomiędzy wakuolami wydzieliny.

Ogólnie można by powiedzieć, że duże dawki atropiny, działając hamująco na proces wydzielniczy ślinianek podszczękowych, spowodowały również dość znaczne nagromadzenie się w jądrach kwasu DRN. Czy kwas ten został w nadmiarze wytworzony, czy też przeciwnie, nie został zużyty, trudno w naszym przypadku rozstrzygnąć, należy jednak brać pod uwagę raczej to drugie przypuszczenie.

III Grupa doświadczalna

Roztwór fizjologiczny soli

Grupa ta obejmowała myszki (Nr 76—102), którym wstrzykiwano podskórnie sól fizjologiczną, z tym, że myszki Nr 76—93 otrzymały jednorazowo po 1 ccm tego roztworu (materiał do badań pobrano po 5, 10, 15, 20, 25 i 30 min.) a pozostałym podawano od 2 do 4 ccm co 3 godz. a mianowicie: myszki Nr 94—96 otrzymały po 2 ccm, Nr 97—99 po 3 ccm, a Nr 100—192 po 4 ccm. Preparaty uzyskane z pobranego materiału odpowiadały wszystkie swoim obrazem histologicznym preparatom kontrolnym.

Omówienie wyników badań

Proces wydzielniczy ślinianek zależny jest, jak wiadomo, od układu wegetatywnego. W naszych doświadczeniach działając na jego część parasympatyczną, otrzymaliśmy częściowe hamowanie lub pobudzanie czynności komórek wydzielniczych, co dało w rezultacie bardzo znamienne obrazy histologiczne. Reasumując otrzymane i powyżej omówione wyniki naszych doświadczeń należy stwierdzić, że działanie polikarpiny, powodując znaczne wzmożenie wydzielania ślinianek spowodowało, poza zmianami w kształcie i wielkości komórek, oraz zawartości w nich wydzieliny, także znaczne zmiany w samym jądrze komórkowym.

Najbardziej charakterystyczny dla maksimum działania pilokarpiny był obraz komórki niezbyt wysokiej, o skąpej ilości wydzieliny. Zjawisko to można tłumaczyć sobie obfitym produkowaniem i szybkim wydzielaniem śluzu, czego potwierdzeniem było znaczne nagromadzenie go we wszystkich przewodach odprowadzających i świetle gronek i cewek wydzielniczych. Dalszą charakterystyczną cechą tych komórek były bardzo duże, dochodzące do wielkości połowy komórki, zupełnie okrągłe jądra. Na podstawie przeprowadzonych badań trudno jest określić, nawet porównawczo z materiałem kontrolnym, czy były one bogate czy też ubogie w kwas dezoksyrybonukleinowy, można jednak śmiało mówić o znacznych zmianach w jego rozmieszczeniu. Ogólnie odnosiło się wrażenie, że jądra te były jednak jakby puste, że zawierały kwasu DRN niewiele, gromadził się on w dość duże wprawdzie, lecz nieliczne grudki, leżące zazwyczaj bezpośrednio przy błonie jądrowej.

Inny zupełnie obraz dały preparaty ślinianek, na które działano atropiną. Na tych preparatach dość wysokie komórki również niewiele zawierały wydzieliny, lecz w świetle tak gronek, jak i przewodów odprowadzających nie spotkaliśmy jej zupełnie. Możnaby więc mówić w tym przypadku o zahamowaniu produkcji, oraz o całkowitym porażeniu mechanizmu usuwania wydzieliny. Jądra komórek wydzielniczych były małe, owalne, często nawet wrzecionowate, umieszczone zawsze w podstawowej części komórki. Dawały one dość silny odczyn Feulgena, prawie równomierny na obszarze całej karioplazmy. Kwas DRN rozpływał się w nich obficie drobnymi ziarnistościami.

Z podanego pokrótce opisu jasno wynika, że jądra komórek gruczołowych cechowały się znacznym polimorfizmem, zależnym od ich stanu wydzielniczego. Można by sądzić, że różnym okresom w natężeniu wydzielania komórek śluzowych ślinianek podszczękowych myszy odpowiadają różne obrazy ich jąder.

Należało by postawić teraz pytanie: na czym polega zależność morfologiczna jąder od procesu wydzielania, jakie zmiany w nich zachodzą i co jest istotną tego przyczyną?

Czysto morfologiczny kierunek miały prace Maziarskiego, jedne z pierwszych w tej dziedzinie. Autor ten zauważył mianowicie cały szereg bezpośrednich połączeń strukturalnych pomiędzy jądrem, a zawartą w cytoplazmie wydzieliną.

W badaniach naszych zwróciliśmy szczególną uwagę na zachowanie się kwasu DRN. Gubernìew i Ilina wykazali na gruczołach trawiennych psów znaczny wzrost ilości kwasów nukleinowych w okresie ich pobudzenia, a Gubernìew i Kowyrew (1948—49) wykazali znaczny wzrost w jądrze kwasu DRN, który z kolei (Caspersson, Brachet, Godlewski i inni), może ulegać przemianie na kwas RN. Przemiana ta może zachodzić w okolicy błony jądrowej i w okolicy przyjądrowej, na co wskazywałyby również obserwowane przez nas obrazy, gdzie po działaniu pilokarpiną stwierdza się nierzadko całkowity brak chromatyny towarzyszącej jąderku.

Cytoplazmatyczny kwas RN występuje w komórce w przeważnej części pod postacią dwu rodzajów ziarenek. Jedne z nich są małe, zwane mikrosomami, drugie zaś, których wielkość wynosi około 0,5—2,0 mikronów średnicy, Brachet określa nazwą granuli. Te ostatnie odpowiadają całkowicie opisywanym od dawna przez cytologów mitochondriom, co zostało potwierdzone również i na naszych preparatach. Otóż obraz chondriomu wykazany hematoksyliną żelazistą pokrywał się zazwyczaj z pyroninofilnymi granulami cytoplazmy. Użycie rybonukleazy według metody Bracheta zastosowane ze względów technicznych (dysponowanie minimalną ilością tego fermentu) na niewielkiej ilości preparatów potwierdziło w zupełności zgodność pojęć granuli i mitochondriów.

Na podstawie omówionej częściowo literatury i wykonanych doświadczeń można byłoby przedstawić ciąg pracy komórki wydzielniczej w ten sposób, że kwas DRN ulegając całemu szeregowi skomplikowa-

nych przemian, przy udziale zaczynów, poprzez granule-mitochondria i aparat Golgiego tworzy końcowy produkt przemiany.

Pewnego rodzaju potwierdzeniem naszych przypuszczeń uczynionych na podstawie pracy przeprowadzonej nad ślinianką mi, są badania autorów pracujących na innym materiale (H y d e n, S t o w e l l, D e s c h i n (1940), B r a c h e t i inni).

K o l l e r uważa, że wzrost ilości chromocentrów i chromatyny towarzyszącej jąderku, a więc wzrost heterochromatyny występuje przy pobudzeniu czynności komórki.

Na podstawie uzyskanych przez nas wyników trudno jest zgodzić się ze zdaniem K o l l e r a. Należy raczej sądzić, że na skutek działania atropiny dochodzi do zaburzeń w przemianach kwasów nukleinowych. Silne nagromadzenie kwasu DRN w jądrze w postaci licznych chromocentrów, co jest wraz z przerośnięciem strefy przyjąderkowej cechą charakterystyczną tkanki nowotworowej (C a s p e r s s o n, K o l l e r) wskazuje na czynnościową izolację jądra, wstrzymanie przemiany kwasu DRN na korzyść kwasu RN biorącego udział, jak to wykazały liczne badania (G u b e r n i e w, K o w y r e w, I i i n a, D a v i d s o n, D e s c h i n), w procesach wydzielniczych komórek.

W swojej pracy porównawczej nad tkanką nowotworową i embrionalną V o r b r o d t (1951) dochodzi do wniosku, że przerost heterochromatyny podobny do obserwowanego w tkance nowotworowej i wzrost ilości kwasu DRN jest wynikiem zahamowania czynności pewnych fermentów na skutek braku grup — SH. Szybkie podziały komórek nowotworowych przypisuje on wielkiemu nagromadzeniu i silnemu przerostowi aparatu jądrowego, którego rozładowanie może nastąpić jedynie drogą podziału tego jądra.

Wnioski te wydają się słuszne, jeśli zwrócimy uwagę na zachowanie się komórek gruczołowych ślinianek poddanych działaniu atropiny. Tutaj również spotykamy się z przerostem kwasu DRN w jądrze, oraz z brakiem jego fizjologicznego rozładowania. Zaobserwowane na naszych preparatach stosunkowo liczne figury mitotyczne, nie stwierdzone na preparatach kontrolnych i na preparatach po działaniu pilokarpiny, zgodne są i potwierdzają przypuszczenie wyrażone przez V o r b r o d t a.

Należy więc sądzić, że atropina bezpośrednio czy też pośrednio poprzez układ parasympatyczny powoduje uszkodzenie przemian wewnątrzkomórkowych, które w końcowym wyniku wstrzymują fizjolo-

giczną czynność tych komórek. Ponieważ wiadomo, że atropina poraża układ zakończeń parasympatycznych, można wnioskować, jak doniosłą rolę odgrywa on w normalnych procesach wewnątrzkomórkowych.

Zestawienie wyników

Doświadczenia, które miały na celu zbadanie udziału substancji jądrowej, ze szczególnym uwzględnieniem kwasu DRN, w czynności wydzielniczej komórek śluzowych ślinianek, polegały na jednorazowym i wielokrotnym podskórnym wstrzykiwaniu myszom w okolicę grzbietu 0,4% pilokarpiny, 0,1% atropiny oraz płynu fizjologicznego. Na podstawie przeprowadzonych badań dochodzimy do następujących wniosków:

1. Działanie pilokarpiny wyrażało się nie tylko zmianami kształtu i wielkości komórek, ale także zmianami wielkości, kształtu i umiejscowienia jąder.

2. W okresie procesu wydzielniczego można było zaobserwować w jądrach przemieszczenie kwasu DRN na obwód, a przy dłuższym działaniu pilokarpiny ubytek chromatyny związanej z jąderkiem. Kwas DRN gromadził się w dużych nielicznych grudkach (chromocentrach) umiejscowionych zwykle bezpośrednio przy błonie jądrowej.

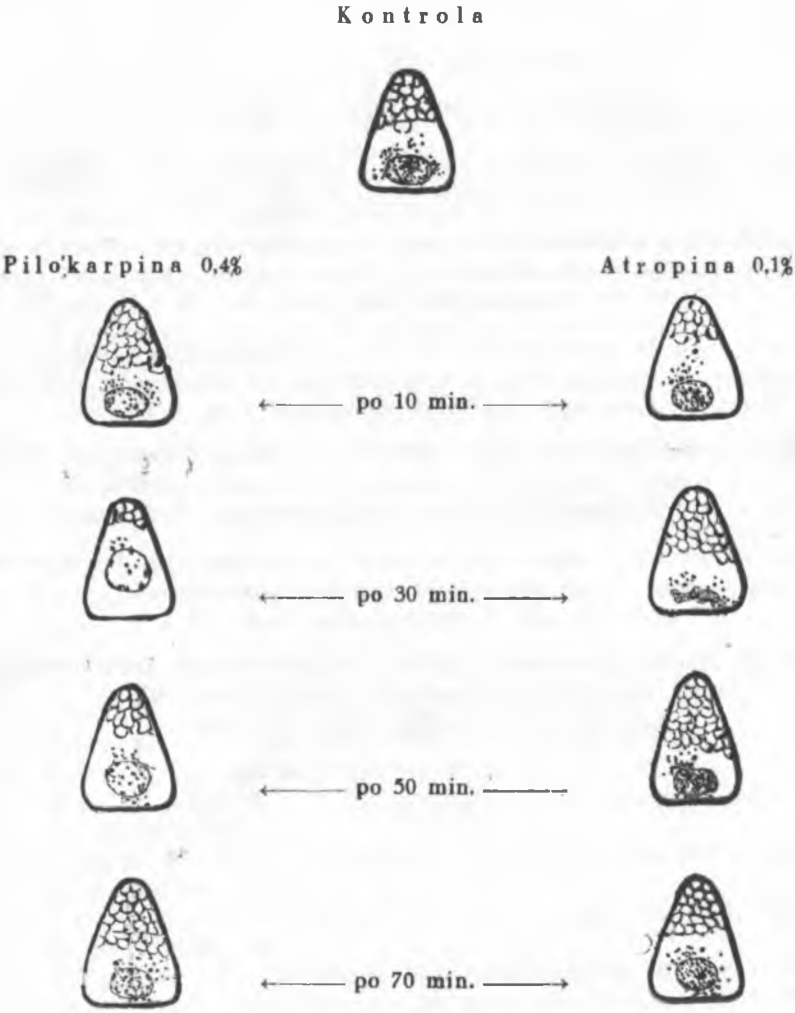
3. Podanie atropiny powodowało wstrzymanie procesu wydzielniczego. Jądra komórek wydzielniczych były małe, owalne, często wrzecionowate, umieszczone w podstawowej części komórki.

4. Atropina powodowała rozproszenie kwasu DRN po całym obszarze jądra pod postacią drobniutkich chromocentrów, przy czym zauważyliśmy wybitne nagromadzenie chromatyny przyjąderkowej.

5. Różnice w rozmieszczeniu chromocentrów w jądrach po podaniu pilokarpiny i atropiny mogą być dowodem, że jądra biorą czynnv udział w procesie wydzielniczym komórki.

6. Istnieje topograficzny związek pomiędzy chromocentrami jądra a ziarenkami chondriomu, które w okresie czynności komórki znajdowały się w strefie przyjądrowej, w bezpośredniej bliskości błony jądrowej. Stwierdzenie związku topograficznego pozwala myśleć o możliwości istnienia związku fizjologicznego pomiędzy jednymi i drugimi.

7. W komórkach gruczołowych poddanych działaniu atropiny zaobserwowano liczne podziały kariokinetyczne.



Ryc. 1. Schemat komórek gruczołowych ślinianek myszy poddanych działaniu pilokarpiny i atropiny. Zaznaczono umiejscowienie chondriomu, zmiany umiejscowienia i kształtu jąder oraz rozmieszczenie w nich kwasu dezoksyrybonukleinowego.

OBJAŚNIENIA DO MIKROFOTOGRAFII

Mikrofot. 1. Ślinianka podszczękowa myszy. 4 ccm pilokarpiny 0,4%. Jądra duże, okrągłe. Barwienie: odczyn Feulgena: Pow. około 600 x

Mikrofot. 2. Ślinianka podszczękowa myszy. 4 ccm pilokarpiny 0,4%. Duże, okrągłe jądra z nielicznymi chromocentrami przy błonie jądrowej. Barwienie: odczyn Feulgena. Pow. około 1350 x

Mikrofot. 3. Ślinianka podszczękowa myszy. 4 ccm pilokarpiny 0,4%. Mitochondria zgrupowane w okolicy jądra i częściowo rozrzucone między pęcherzykami wydzieliny. Barwienie: hematoksylina żelazista Heidenhaina. Pow. około 1350 x.

Mikrofot. 4. Ślinianka podszczękowa myszy. 1 ccm atropiny 0,1 % przez 20 min. Jądra bogate w kwas DRN z widoczną chromatyną przyjąderkową. K — figura podziałowa. Barwienie: odczyn Feulgena. Pow. 1200 x

Mikrofot. 5. Ślinianka podszczękowa myszy. 4 ccm atropiny 0,1%. Porozszerzane odcinki wydzielnicze. Jądra rozmieszczone obwodowo. Barwienie: odczyn Feulgena Pow. około 120 x.

Mikrofot. 6. Ślinianka podszczękowa myszy. 4 ccm atropiny 0,1%. Jądra komórkowe małe, owalne lub wrzecionowate, bogate w kwas DRN. Barwienie: odczyn Feulgena. Pow. około 1350 x.

PIŚMIENNICTWO

1. Ahara M. — Trans. Jap. Path. Soc. Vol. 20, str. 465—472, 1930.
2. Ahara M. — Trans. Jap. Path. Soc. Vol. 22, str. 434—443, 1932.
1. Aoyama F. — Zschr. f. Zellforsch. u. Mikr. Anat. Vol. 12, str. 179—206, 1931.
4. Brachet J. — Embriologie chimique. Paris, 1947.
5. Casperson T. — Symp. Soc. Exp. Biol. Cambridge, str. 136—157, 1947.
6. Chodnik K. S. — Quart. Jour. Mikr. Scien. Vol. 88, str. 419—462, 1947.
7. Chodnik K. S. — Quart. Jour. Mikr. Scien. Vol. 89, str. 75—87, 1948.
8. Czassownikow N. — Arch. Russ. Anat. Hist,u. Embr. Vol. 8, str. 7—23. 87—100, 1929.
9. Dawidson J. N. — Soc. Exp. Biol. Symp. Cambridge, str. 77—85, 1947.
10. Deschin 1940 — cyt. wg Dawidsona 1947 (poz. 9).
11. Godlewski E. iun. — Embriologia zwierząt kręgowych. Wyd. II. Kraków, 1946.
12. Grzycki S. — Spraw. PAU Kraków, Vol. 50, 6, str. 313—315, 1949.
13. Grzycki S. — Bull. Pol. Ak. Scin. Kraków, Cl. Sc. Math. Nath. Ser. B. str. 289—302, 1949.
14. Grzycki S. — Bull. Pol. Ak. Scien. Kraków, Cl. Sc. Math. Nath. Ser. B. 1951.
15. Grzycki S. — Spraw. PAU Kraków. Vol. 52, 1. str. 44, 1951.
16. Grzycki S. — Annal. UMCS. Sec. D. Vol. 6, str. 297—322, 1951.
17. Grzycki S. — Annal. UMCS. Sec. D. Vol. 6, str. 223—249, 1951.
18. Grzycki S. — Annal. UMCS. Sec. D. Vol. 6, str. 285—300, 1951.
19. Grzycki S. — Spraw. PAU. Vol. 52, 6, 1951.
20. Guberniew M. A. i Ilina L. I. — Dokł. Ak. Nauk ZSRR. Vol. 71, str. 351—353, 1950.
21. Guberniew M. A. i Kowyrew L. G. — Dokł. Ak. Nauk. ZSRR. Vol. 68, str. 889—891, 1949.
22. Guberniew M. A. i Kowyrew L. G. — Dokł. Ak. Nauk. ZSRR. Vol 68. str. 889—891, 1949.
23. Hirsch G. Ch. — P. Kon. Ak. Wet. Amsterdam. Vol. 40, str. 614—624, 1937.
24. Hirsch G. Ch. — P. Kon. Ak. Wet. Amsterdam. Vol. 40, str. 725—735, 1937.
25. Hirsch G. Ch. — Form.- u. Stoffwechsel der Golgikörper. Protoplasma Monogr. Vol. 18. Berlin, 1939.
26. Hirsch G. Ch. — Zschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. Vol. 15, str. 290—310, 1932.
27. Hyden H. — Symp. Soc. Exp. Biol. Cambridge, str. 152—161, 1947.
28. Kedrowski B. W. — Usp. Sowr. Biologii. Vol. 23, str. 375—404, 1947.
29. Koller P. C. — Symp. Soc. Exp. Biol. Cambridge, str. 270—278. 1947.
30. Kuraschige S. — Fol. Anat. Jap. Vol. 8, str. 313—322, 1930.

31. Kurkiewicz T. — Bull. Assoc. Anat. Varsovie, str. 252—255, 1931.
32. Kurnick M. B. — Journ. Gen. Physiol. Vol. 33, str. 243—264, 1950.
33. Lever J. — Proc. Kon. Ned. Ak. v. Wet. Vol. 50, str. 1365—1369, 1948.
34. Lewynson L. B. i Platonowa G. N. — Dokł. A. N. ZSRR. Vol. 60, str. 129—132, 1948.
35. Lewynson L. B. i Platonowa G. N. — Dokł. A. N. ZSRR. Vol. 58, str. 1769—1772, 1947.
36. Lewynson L. B. i Utyna J. A. — Dokł. A. N. ZSRR. Vol. 66, str. 269—272, 1949.
37. Maziarski S. — Arch. f. Zellforsch. Vol. 6, str. 397—442, 1911.
38. Mitschell K. — 1943 cyt. wg Dawidsona 1947 (poz. 9).
39. Nassonow D. — Arch. f. Mikr. Anat. Vol. 100, str. 433—472, 1923.
40. Nassonow D. — Arch. f. Mikr. Anat. Vol. 97, str. 136—186, 1923.
41. Nassonow D. — Ztschr. f. Zellforsch. u. Mikr. Anat. Vol. 3, str. 472—502, 1926.
42. Pawlikowski T. — Pozn. Tow. Przyj. Nauk. Vol. 5, str. 189—316, 1938.
43. Pawlikowski T. — C. R. Soc. Biol. 120, str. 469—470, 1935.
44. Pawlikowski T. — Fol. Morf. Vol. 2, str. 218—238, 1937.
45. Polenow A. L. — Dokł. Ak. Nauk. ZSRR. Vol. 73, str. 1025—1028, 1950.
46. Polister A. W. 1944 — cyt. wg Dawidsona 1947 (poz. 9).
47. Ries E. — Arch. Exp. Zellforsch. Vol. 12, str. 366—378, 1937.
48. Sluiter J. W. — Proc. Kon. Ned. Ak. v. Wetensch. Vol. 51, str. 353—357, 1948.
49. Stowell R. E. — J. Nat. Cancer Inst. Vol. 6, str. 426—435, 1946.
50. Stowell R. E. — Symp. Soc. Exp. Biol. Cambridge, str. 190—206, 1947.
51. Szabuniewicz B. — Przegl. Lek. 6, II, 13/14, str. 497—503, 1950.
52. Thomas O. L. — Quart. Journ. Mikr. Sc. Vol. 89, str. 333—350, 1948.
53. Vorbrodt A. — Bull. An. Pol. Kraków. Cl. Sc. Math. Nath. S. B., 1951 (w druku).

РЕЗЮМЕ

Исслецования проводолись на подчелюстных слюнных железах белых мышек. Исследуемым животным вводилось подкожно пилокарпин 0,4°/₀ и атропин·0,1°/₀. Материал фиксировано в жидкостях: Карной, Крелингера, формоле нейтралном 10°/₀ и 6°/₀ сулеме с уксусной кислотой. Препараты окрашивались: гемалауном и эозином, железистым гематоксилином Гейденгейна, метиловой зеленью и пиронином, после предварительного действия рибонуклеаза (мет. Брашета) и жидкости Фейльгена, для обнаружения нуклеиновых кислот.

На основании проведенных исследований автор пришел к следующим выводам:

1. Действие пилокарпина выражалось не только изменениями формы и величины клеток, но также изменениями величины, формы и локализации ядер.
2. В периоде секреторного процесса можно было наблюдать в ядрах перемещение кислоты ДРН на периферию, а при более длительном действии пилокарпина — убыль хроматина связанного с ядрышком. Кислота ДРН скоплялась в больших, немногих клочках (хроматоцентрах) находящихся обыкновенно при оболочке ядра.
3. Введение атропина вызывало задержание секреторного процесса. Ядра секреторных клеток были малы, овальные, часть веретенообразные, расположенные в базальной части клетки.
4. Атропин вызывал рассеивание кислоты ДРН по всему ядру в виде очень мелких хромоцентров, при чем мы заметили исключительное накопление приядрышкового хроматина.
5. Разницы в размещении хромоцентров в ядрах после введения пилокарпина и атропина могут быть доказательством того, что ядра принимают активное участие в секреторном процессе.

ОБЪЯСНЕНИЯ К МИКРОФОТОГРАФИЯМ И РИСУНКАМ

Рис. 1. Схема клеток слюнных желез мыши под действием пилокарпина и атропина. Обозначены: расположение хондриома, перемены расположения и вида ядер, а равно и расположение в них дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Микрофот. 1. Слюнная подчелюстная железа мыши. 4 см^3 0,4% пилокарпина Ядра большие, круглые. Окраска реакция Фейльгена. Ок. 600 х увеличение.

Микрофот. 2. Слюнная подчелюстная железа мыши, 4 см^3 0,4% пилокарпина Ядра большие, круглые с малочисленными хромоцентрами вблзи оболочки ядра. Окраска реакция Фейльгена. Увелич. ок. 1350 х.

Микрофот. 3. Слюнная подчелюстная железа мыши. 4 см^3 0,4% пилокарпина Митохондрии сгруппированы в окружности ядра и частью рассеяны среди пузырьков секрета. Окраска: железистый гематоксилин Гейденгейна. Увелич. ок 1350 х.

Микрофот. 4. Слюнная подчелюстная железа мыши. 1 см^3 0,1% атропина в течение 20 мин. Ядра обилуют в ДРН-кислоту с явным приядрышным хроматином. К — фигура деления. Окраска реакция Фейльгена. Увел. 1200х.

Микрофот. 5. Слюнная подчелюстная железа мыши. 4см^3 0,1% атропина. Рассеянные частицы секрета. Ядра расположены по окружности. Окраска: реакция Фейльгена. Увелич. ок. 120х.

Микрофот. 6. Слюнная подчелюстная железа мыши. 4 см^3 0,1% атропина. Ядра клетки малые, овальные либо веретенообразные обилуют в ДРН — кислоту. Окраска реакция Фейльгена. Увелич. ок 1350х.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Experimente wurden an den Unterkieferspeicheldrüsen von weisse Mäusen ausgeführt. Die Tiere bekamen mehrmals je 1 ml des 0,4% Pilokarpins und 0,1% Atropins subkutan. Die Präparate wurden in folgenden Lösungen fixiert: Carnoy, Krälinger, 10% neutrales Formalin und 6% Sublimat mit Zusatz von Essigsäure. Färbung mit Hämalaun und Eosin, Eisenhämatoksylin nach Heidenhain, ausserdem, um Nukleinsäure nachzuweisen, Methylgrün und Pyronin nach vorgängiger Behandlung mit Ribonuklease (Brachets Meth.), und Reaktion nach Feulgen.

Ergebnisse:

1. Die Wirkung des Pilokarpins war nicht nur durch die Aenderung der Form und Grösse der Zellen, aber auch durch die Aenderung der Grösse, Gestalt und Lokalisierung der Zellkerne ausgedrückt.
2. Während des Ausscheidungsprozesses bemerkte man an den Zellkernen, dass die Desoksyribonukleinsäure (DRN) auf die Peripherie verlegt wird, und dass bei etwas längerer Wirkung des Pilokarpins eine Abnahme des mit dem Kernkörperchen verbundenen Chromatins eintritt. Die DRNsäure häufte sich an in grossen aber nich zahlreichen Klümpchen (Chromozentren), die gewöhnlich unmittelbar neben der Kernhaut gelegen sind.
3. Eine Einspritzung von Atropin hemmte den Ausscheidungsprozess. Die Kerne der betreffenden Zellen waren klein, oval, oftmals spindelförming und and der Zellbasis gelegen.
4. Das Atropin verursachte eine Zersteuung der DRNsäure auf der ganzen Kernfläche in Gestalt von feinen Chromozentren, dabei haben wir eine hervorrangende Anhäufung des Kernkörperchenchromatins bemerkt.
5. Die Verschiedenheit in der Verteilung der Chromozentren der Zellkerne, nachdem die Einspritzung des Pilokarpins und des Atropins gemacht wurde, kann als Beweis dafür dienen, dass die Zellkerne am Ausscheidungsprozesse einen tätigen Anteil nehmen.

ERLÄUTERUNGEN DER ABBILDUNGEN

Abb. 1. Das Schema für die Speicheldrüsen der Mäuse unter der Wirkung des Pilokarpins u. des Atropins. Die Lokalisierung des Chondrioms, die Veränderungen der Lokalisierung u. Gestalt der Zellkerne, sowie die Verteilung in ihnen der Desoksyribonukleinsäure sind bezeichnet.

Mikrophot. 1. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 4 ccm. Pilokarpins 0,4%. Die Zellkerne sind gross u. rund. Färbung: Feulgensreaktion. Ca 600 x vergrössert.

Mikrophot. 2. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 4 ccm. Pilokarpins 0,4%. Die Zellkerne sind gross u. rund mit wenigen Chromozentren neben der Kernhaut. Färbung: Feulgensreaktion. Ca 1350 x vergrössert.

Mikrophot. 3. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 4 ccm. Pilokarpins 0,4%. Die Mitochondrien sind in der Kerngegend gruppiert und teilweise unter die Bläschen der Absonderung zerstreunt. Färbung: Eisenhämatoksylin nach Heidenhain. Ca 1350 x vergrössert.

Mikrophot. 4. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 1 ccm des Atropins 0,1% während 20 Min. Die Zellkerne sind reichlich an die DSN-säure mit sichtbarem Kernkörperchenchromatin ausgestattet. K — Teilungsgebilde. Färbung: Feulgensreaktion. Ca 1200 x vergrössert.

Mikrophot. 5. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 4 ccm des 0,1% Atropins. Die erweiteten Ausscheidungsabschnitte. Die Zellkerne sind peripherisch gelegen. Färbung: Feulgensreaktion. Ca 120 x vergrössert.

Mikrophot. 6. Die Unterkieferspeicheldrüse der Maus. 4 ccm des 0,1% Atropins. Die Zellkerne sind klein, oval, oder spindelförming, reich an die DRN säure. Färbung: Feulgensreaktion. Ca 1350 x vergrössert.

Papier druk. sat. III kl. 90 g. Format 70 x 100 Ark. druku 1 i 6 str,
Annales U. M. C. S. Lublin 1952. Lub. Druk. Pras. Lublin, ul. Kościuszki 4 Zam. Nr 1530. 30.VIII.52
1050 egz. A-3-20016 Data otrzymania manuskryptu 30.VIII.52. Data ukończenia druku 14 XI 52.